

000845065

WPI Acc No: 72-05016T/197203

Uridine diphosphogalactose prodn - by enzymatic reaction from uridylic acid, phosphoric acid donor and a sugar

Patent Assignee: OGATA K (OGA -I)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Main IPC	Week
JP 72001837	B						197203 B

Priority Applications (No Type Date): JP 6812731 A 19680228

Abstract (Basic): JP 72001837 B

A mixture contng. uridylic acid, a phosphoric acid donor, a sugar source, a magnesium salt and other compounds is treated with cells or product thereof of a microorganism belonging to genus *Saccharomyces*, genus *Candida*, genus *Torulopsis* or genus *Brettanomyces* and the uridine diphosphogalactose formed is collected. A pH of 4.5-9.0 and a temp. 5-40 degrees C are used. The product is a precursor of galactolipid or lactose and is used as a drug and biochemical reagent.

Title Terms: URIDINE; PRODUCE; ENZYME; REACT; URIDYLIC; ACID; PHOSPHORIC; ACID; DONOR; SUGAR

Derwent Class: B03; D16

International Patent Class (Additional): C07D-000/00; C12D-000/00

File Segment: CPI

⑤Int.CI. ⑥日本分類
C 12 d 36(2)D 522.11
C 07 d 16 E 461

日本国特許庁

⑦特許出願公告

昭47-1837

⑧特許公報

⑨公告 昭和47年(1972)1月19日

発明の数 1

(全3頁)

1

⑩ウリジンジフォスフォガラクトースの製法

⑪特 願 昭43-12731
⑫出 願 昭43(1968)2月28日
⑬発明者 桜倉辰六郎
京都府乙訓郡西向日町住宅地野上
山31の21
同 緒方浩一
⑭出願人 緒方浩一
箕面市箕面446
代理人 弁理士 赤岡迪夫

発明の詳細な説明

本発明はウリジンジフォスフォガラクトース
(以下、UDPGalと略記する)の生化学的製法
に関する。

UDPGalは広く生体内に分布し、重要な働きをしていることが知られている。例えばガラクトリビドあるいは乳糖の合成前駆体として乳腺組織などに多量に含まれている生体成分であり、¹⁵ 生化学的試薬あるいは医薬品としてその価値が重要視されている。

このものの生化学的製法としてはウリジンジフォスフォグルコースICサクカロミセス・フラギリス (*Saccharomyces fragilis*)の酵素²⁵ を作用させて調製する方法 (Arch. Biochem. Biophys., 33, 186 (1951)) はすでに公知である。然し、この方法では収量が極めて悪く、また原料が非常に高価で工業的製法として採用し難いものであった。本発明者らは上記の方³⁰ 法とは全く異った方法、即ちウリジル酸とリン酸供与体、糖源、マグネシウム塩、その他を含む反応液に微生物の菌体もしくはその処理物を酵素源として添加し、酵素反応させることにより極めて収率よくUDPGalを製造する方法を見出した。³⁵

リン酸供与体としては、例えば無機リン酸塩の如く通常の酵素反応に使用されるリン酸化合物が用いられる。また糖源としては、例えばガラクト

2

ース、ラクトース、メリピオースなどガラクトースを構成成分とする糖のいずれか一つまたはそれらの二つ以上の混合物あるいはそれらを含むものを使用することが出来る。

本発明に用いられる微生物としては例えばサッカロマイセス・ラクテイス (*Saccharomyces lactis*)、キヤンディダ・シユードトロビカリス (*Candida pseudotropeca lis*)、キヤンディダ・インタメディア (*Candida intermedia*)、トルロブシス・キヤンディダ (*Torulopsis candida*)、トルロブシス・スフェリカ (*Torulopsis sphaerica*)、ブレタノマイセス・クラウゼニイ (*Brettanomyces clausenii*) の如き酵母類が好適であり、菌体内酵素の通常の利用形態がすべて適用出来る。例えば菌体それ自体あるいは菌体を含む培養物をそのまま用いうると共に、菌体磨碎物、菌体抽出物、あるいは乾燥菌体などを使用してもよい。

前記微生物の培養は、それら微生物の特性に応じて行われるが、通常用いられる培養基が広く用いられる。例えば炭素源としてデン粉、可溶性デン粉、デキストリン、ブドウ糖、ショ糖、乳糖、麦芽糖、グリセリン等、窒素源としては、ペプトン、肉エキス、酵母抽出物、大豆粉、コンステブリカ、グルテン、グルタミン酸ナトリウム、尿素などが用いられる。

反応条件は、糖類の種類および濃度、菌株の種類、酵素活性の強弱などに応じて酵素を失活せしめない範囲で適宜選択されるが、通常 pH 4.5 ~ 9.0、反応温度 5 ~ 40 °C が適当である。本発明によれば、例えば 5' -ウリジル酸 0.02 ~ 0.04 モル濃度、ガラクトース 0.2 ~ 0.4 モル濃度、リン酸 0.2 ~ 0.3 モル濃度、硫酸マグネシウム 0.01 ~ 0.03 モル濃度、pH 7.0、温度 28 °C の反応条件において添加 5' -ウリジル酸は 80 % の好率で UDPGal に転換される。生成した UDPGal は反応液より必要に応じてイ

オン交換樹脂法、溶剤沈殿法、その他の手段によつて、分離精製される。

実施例 1

トルロブシス・キヤンディダ IFO 0768 (*Torulopsis candida* IFO 0768) をガラクトース 50 g、ペプトン 5 g、酵母エキス 5 g、リン酸第 1 カリ 2 g、硫酸マグネシウム 1 g、水道水よりなる pH 6.2 の培地に接種し、48 時間、28°C で振盪培養し、培養液を遠心分離して菌体を集め室温で風乾し、10 g の酵素標品とした。この酵素標品 25 g、ガラクトース 3.6 g、5' - ウリジル酸 650 mg、硫酸マグネシウム 200 mg を 250 ml の 0.5 モルのリン酸緩衝液 (pH 7.0) に加え 28°C で 8 時間振盪反応させた後 5 分間加熱して生じる沈澱を濾別する。この濾液を塩酸で pH 2 に調整し、活性炭のカラムに通し生成した UDPGal を吸着させる。このカラムを水洗した後、1.5 % アンモニア性の 50% エタノールを通して吸着物を溶出する。溶出液を濃縮し、この UDPGal を陰イオン交換樹脂 (ダウエックスー I (O1型)) のカラムに吸着させる。このカラムを水洗した後、0.01 N 塩酸を含む 0.04 モル食塩溶液で UDPGal を溶出し、再び活性炭で処理し、最後後凍結乾燥して 800 mg の UDPGal の結晶を得た。

実施例 2

トルロブシス・キヤンディダを乳糖 50 g、ペプトン 5 g、酵母エキス 5 g、リン酸第 1 カリ 2 g、硫酸マグネシウム 1 g、水よりなる pH 6.2 の培地に接種し、48 時間 28°C で振盪培養し、培養液を遠心分離して菌体を集め室温で風乾する。

この乾燥菌体 1 g、ガラクトース 360 mg、5' - ウリジル酸 65 mg、硫酸マグネシウム 35 mg を 10 ml の 0.5 モルのリン酸緩衝液 (pH 7.0) に加え 28°C で 8 時間振盪反応させた反応液中に 78 mg の UDPGal を生成せしめた。

実施例 3

実施例 2 により調整した乾燥菌体 1 g を乳糖 700 mg、5' - ウリジル酸 65 mg、硫酸マグネシウム 20 mg を含む 10 ml の 0.5 モルリン酸緩衝液 (pH 7.0) に加え 28°C で 8 時間振盪反応させ反応液中に 80 mg の UDPGal を

生成せしめた。

実施例 4

実施例 2 の方法でサツカロマイセス・ラクティス IFO 1090 (*Saccharomyces lactis* IFO 1090) を培養し、風乾菌体 1 g を乳糖 700 mg、5' - ウリジル酸 65 mg、硫酸マグネシウム 20 mg を含む 10 ml の 0.5 モルリン酸緩衝液 (pH 7.0) に加え 28°C で 8 時間振盪反応させ反応液中に 88 mg の UDPGal を生成せしめた。

実施例 5

実施例 2 の方法でキヤンディダ・シュードトロピカリス IFO 0882 (*Candida pseudotropicalis* IFO 0882) の乾燥菌体を調製する。この菌体 2 g をガラクトース 700 mg、5' - ウリジル酸 130 mg、硫酸マグネシウム 40 mg を含む 20 ml の 0.5 モルリン酸緩衝液 (pH 7.0) に加え 28°C で 4 時間振盪反応させ反応液中に 120 mg の UDPGal を生成せしめた。

実施例 6

トルロブシス・スフェリカ IFO 0648 (*Torulopsis sphaerica* IFO 0648) を実施例 2 の方法で培養し室温で風乾した乾燥菌体 2 g をガラクトース 700 mg、5' - ウリジル酸 130 mg、硫酸マグネシウム 40 mg を含む 20 ml の 0.5 モルリン酸緩衝液 (pH 7.0) に加え 28°C で 4 時間振盪反応させたところ反応液中に 120 mg の UDPGal が生成した。また上記反応組成のうちガラクトースを乳糖に代えて反応させ、反応液中に 135 mg の UDPGal を生成せしめた。

実施例 7

実施例 2 の方法でブレタノマイセス・クラウゼニ IFO 0627 (*Brettanomyces clausenii* IFO 0627) を培養し室温で風乾した乾燥菌体 1 g を乳糖 700 mg、5' - ウリジル酸 100 mg、硫酸マグネシウム 20 mg を含む 0.5 モルのリン酸緩衝液 (pH 7.0) 40 ml に加え 28°C で 4 時間反応させ反応液中に 53 mg の UDPGal を生成せしめた。

特許請求の範囲

1 ウリジル酸とリン酸供与体、糖源、マグネシウム塩、その他を含む反応液にサツカロマイセス属、キヤンディダ属、トルロブシス属又はブレタ

5

ノマイセス属に属する微生物の菌体もしくはその
処理物を作用させてウリジンジフォスフォガラクト

6

ースを生成させ、これを採取することを特徴とするウリジンジフォスフォガラクトースの製法。